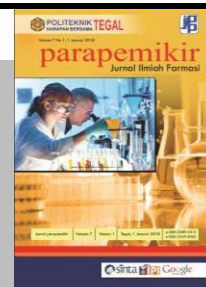




Volume 8 No.1 2019

p-ISSN: 2089-5313
e-ISSN: 2549-5062
<http://ejournal.poltektegal.ac.id/index.php/parapemikir>
E-mail: parapemikir_poltek@yahoo.com



EFEK HIPOGLIKEMIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL Momordica charantia DAN Apium graveolens DENGAN INDUKSI GLUKOSA

Dinar Anggia Zen ^{*1}, Oktariani Pramiastuti ²

^{1,2}Stikes Bhakti Mandala Husada, Jl. Cut Nyak Dhien No.16 Slawi

³Prodi S1 Farmasi, STIKes Bhakti Mandala Husada Slawi, Indonesia

e-mail: ^{*1}anggiazen@gmail.com, ²oppaytgl@gmail.com

Article Info

Article history:

Received July 2017

Received in revised form

July 2017

Accepted August 2017

Available online January 2018

Abstrak

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik yang ditandai oleh kondisi hiperglikemia. Indonesia menempati urutan ke-9 terbesar pada jumlah penderita DM di dunia. WHO merekomendasikan untuk meningkatkan penggunaan tanaman dalam pengobatan, sehingga terjadi peningkatan penelitian mengenai agen hipoglikemik yang berasal dari tanaman obat. Tanaman obat tersebut yaitu buah pare dan daun seledri yang memiliki mekanisme hipoglikemik yang sinergis.

Ekstrak etanol buah pare dan daun seledri dibuat secara maserasi. Hewan uji (mencit) dibagi menjadi 7 kelompok. Kelompok 1 diberi metformin dengan dosis 1,3 mg/20 g BB; kelompok 2 diberi NaCMC 1%; kelompok 3 diberi ekstrak etanol buah pare 100%; kelompok 4, 5, dan 6 diberi kombinasi ekstrak etanol buah pare dan daun seledri dengan perbandingan dosis berturut-turut 75%:25%, 50%:50%, 25%:75% dari dosis efektif masing-masing; kelompok 7 diberi ekstrak etanol daun seledri 100%. Mencit diberi perlakuan sesuai kelompok, 30 menit kemudian diinduksi glukosa per oral untuk membuat kondisi hiperglikemik, lalu cuplikan darah diambil dari vena lateralis ekor mencit pada menit ke 0, 30, 60, 90, dan 120 yang dihitung setelah pemberian glukosa. Kadar glukosa darah diukur dengan metode electrochemical glucose biosensor.

Data AUC₀₋₁₂₀ yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan Uji Anova satu arah menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna, kemudian dilakukan uji Least Significant Difference (LSD) menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak etanol buah pare 50% (17,5 mg/20 g BB) dan daun seledri 50% (14 mg/20 g BB) memiliki efek hipoglikemik terbesar dengan nilai AUC₀₋₁₂₀ terkecil (8.160 menit mg/dl) dibandingkan dengan kelompok lain dan tidak berbeda signifikan dengan metformin 1,3 mg/20 g BB ($p > 0,05$).

Kata kunci—Hipoglikemik,
Diabetes Melitus, Momordica
charantia, Apium graveolens L.

Keywords— Hypoglycemic,
Diabetes Mellitus, Momordica
charantia, Apium graveolens L.

Abstract

Diabetes Mellitus (DM) is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia. Indonesia is ranked number 9 in term of people with DM in the world. WHO recommends increasing the use of plants in medicine, thus it causes the research improvement related to hypoglycemic agent derived from medicinal plants. The medicinal

plants are bitter melon fruit and celery leaf which have the mechanism of synergetic hypoglycemic.

Ethanol extract of bitter melon fruits and celery leaves were macerated. Animal testing (mice) were divided into 7 groups. Group 1 was treated with metformin 1.3 mg/20 g BW; group 2 with NaCMC 1%; group 3 with ethanol extract of bitter melon fruits in a concentrate of 100%; group 4, 5, and 6 with ethanol extract combination of bitter melon fruits and celery leaves in a dosage comparison of 75%:25%, 50%:50%, 25%:75% respectively from each effect dosage; group 7 with ethanol extract of celery leaves in a concentrate of 100%. The mice were given treatment accordance with the group, after 30 minutes they were orally induced glucose to make hypoglycemic condition, then blood samples were taken by the lateral tail vein of the mice at the 0th, 30th, 60th, 90th, and 120th minutes which were calculated after glucose administration. Blood sugar levels were measured by electrochemical glucose biosensor.

The data of AUC0-120 were statistically analyzed by One Way ANOVA which showed that there was a significant difference, continued by Least Significant Difference (LSD) which indicated that the administration of ethanol extract combination of bitter melon fruits in a concentrate of 50% (17.5 mg/20 g BW) and celery leaves of 50% (14 mg/20 g BW) had the greatest hypoglycemic effect with the lowest AUC0-120 value (8,160 minutes mg/dl) compared with other groups and there was no significant difference from metformin 1.3 mg/20 g BW ($p > 0.05$).

©2019 Politeknik Harapan Bersama Tegal

Alamat korespondensi:

Prodi DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal

Gedung A Lt.3. Kampus 1

Jl. Mataram No. 09 Kota Tegal, Kodepos 52122

Telp. (0283) 352000

E-mail: parapemikir_poltek@yahoo.com

p-ISSN: 2089-5313

e-ISSN: 2549-5062

I. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) adalah salah satu penyakit kronis yang paling umum di hampir semua negara, dan terus meningkat jumlahnya. Peningkatan jumlah penderita diabetes karena perubahan gaya hidup yang menyebabkan berkurangnya aktivitas fisik, dan peningkatan obesitas. Global status report on NCD World Health Organization (WHO) tahun 2010 melaporkan bahwa 60% penyebab kematian semua umur di dunia adalah karena penyakit tidak menular. DM merupakan penyakit tidak menular yang menduduki peringkat ke-6 sebagai penyebab kematian. Sekitar 1,3 juta orang meninggal akibat diabetes dan 4 persen meninggal sebelum usia 70 tahun. Tahun 2030 diperkirakan DM menempati urutan ke-7 penyebab kematian dunia. Prevalensi diabetes dunia di kalangan orang dewasa (usia 20-79 tahun) akan menjadi 6,4%, yang mempengaruhi 285 juta orang dewasa, pada tahun 2010, dan akan meningkat menjadi 7,7%, dan 439 juta orang dewasa pada tahun 2030. Antara tahun 2010 dan 2030, akan ada 69% peningkatan jumlah orang dewasa dengan diabetes di negara berkembang dan kenaikan 20% di negara maju ⁽¹⁾. Jumlah penderita diabetes mellitus yang berusia diatas 15 tahun di Indonesia pada tahun 2013 berkisar 12 juta penduduk ⁽²⁾.

Manifestasi penyakit diabetes yang utama adalah metabolisme yang tidak teratur dan hiperglikemia yang persisten. Hiperglikemi dapat mengakibatkan komplikasi vascular yang melibatkan pembuluh darah besar dan kecil, seperti arteriosklerosis, glomerulosklerosis dan retinopati ⁽³⁾. Studi terbaru menggambarkan bahwa hiperglikemia yang tidak terkontrol pada mencit dikaitkan dengan stres oksidatif. Selama diabetes, hiperglikemia persisten meningkatkan produksi reactive oxygen species (ROS) melalui autoksidasi glukosa. Penderita DM dapat mengalami peningkatan stress oksidatif yang akan mengakibatkan berbagai kerusakan oksidatif berupa komplikasi diabetes dan akan memperparah kondisi penderita diabetes karena dapat menghambat pengambilan glukosa di sel otot dan sel lemak serta mengalami resistensi insulin yang semakin berkembang ⁽⁴⁾.

Pengelolaan diabetes mellitus bertujuan mengurangi resiko untuk komplikasi penyakit mikrovaskuler dan makrovaskuler, untuk memperbaiki gejala, mengurangi kematian dan meningkatkan kualitas hidup. Pengelolaan diabetes mellitus selalu dimulai dengan pendekatan non farmakologis. Bila sasaran pengendalian diabetes belum tercapai, maka dilanjutkan dengan penggunaan obat atau intervensi farmakologis yaitu dengan memberikan obat anti diabetik oral dan insulin ⁽⁵⁾.

Tanaman sebagai agen hipoglikemik oral telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional karena terdapat kandungan yang memiliki aktivitas hipoglikemik ⁽⁶⁾. WHO juga merekomendasikan untuk meningkatkan penggunaan tanaman dalam pengobatan ⁽⁷⁾. Hal ini mengakibatkan terjadi peningkatan penelitian mengenai produk alami hipoglikemik yang minimal efek samping ⁽⁸⁾. Salah satu tanaman obat yang dapat digunakan sebagai hipoglikemik adalah buah pare. Menurut penelitian Harinantenaina ⁽⁹⁾ dan Tan ⁽¹⁰⁾ kandungan triterpenoid kukurbitasin dalam buah pare mempunyai aktivitas hipoglikemik dengan meningkatkan aktivasi AMP-Activated Protein Kinase (AMPK) dan menstimulasi GLUT4 (Glucose Transporter-4) sehingga glukosa dalam darah yang tinggi dapat masuk ke dalam sel. Pemberian ekstrak etanol buah pare pada mencit yang diinduksi aloksan dapat menurunkan kadar glukosa darah pada dosis 250 mg/kg BB ⁽¹¹⁾. Berdasarkan penelitian tersebut diketahui bahwa buah pare telah memberikan pengaruh yang nyata terhadap penurunan kadar glukosa darah.

Kombinasi dari dua atau lebih tanaman yang berbeda pernah dilakukan. Obat herbal Pikutbenjakul merupakan gabungan beberapa tanaman yang terdiri dari lima tanaman obat yaitu Piper chaba Linn, Piper sarmentosum Roxb, Piper interruptum Opiz., Plumbago indica Linn. dan Zingiber officinale yang diuji efek sitotoksiknya dengan IC50 sebesar 33,20 µg/ml ⁽¹²⁾. Buah pare perlu dikombinasikan dengan daun seledri karena daun seledri memiliki kandungan triterpen, flavonoid kaempferol, quercetin, apigenin, dan luteolin yang memiliki aktivitas hipoglikemik dan memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mencegah komplikasi DM dengan cara mencegah terjadinya berbagai kerusakan oksidatif ⁽¹³⁾. Penelitian Kesari ⁽⁶⁾ membuktikan bahwa daun seledri dapat menurunkan kadar glukosa darah dan memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mencegah terjadinya kerusakan oksidatif pada mencit diabetik.

Penelitian mengenai buah pare dan daun seledri telah banyak dilakukan namun penelitian kombinasi kedua jenis tanaman tersebut sebagai antidiabetes belum pernah dilakukan. Pada penelitian ini akan diamati efek hipoglikemik ekstrak etanol campuran buah pare (*Momordica charantia*) dan daun seledri (*Apium graveolens* L.) pada mencit yang diinduksi glukosa.

II. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan eksperimental murni yaitu menentukan efek hipoglikemik dari ekstrak etanol buah pare, daun seledri dan kombinasinya pada mencit yang telah diinduksi glukosa.

Populasi adalah buah pare dan daun seledri yang diambil dari Kalibakung Kabupaten Tegal dan dibuat ekstrak etanol. Sampel diambil dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yaitu rancangan yang perlakuannya dikenakan sepenuhnya secara acak kepada unit-unit eksperimen atau sebaliknya, digunakan bila materi percobaannya homogen.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Biologi S1 Farmasi STIKes Bhakti Mandala Husada Slawi.

Tahapan penelitian yang akan dilakukan sebagai berikut:

1. Determinasi tanaman
Tanaman pare dan seledri dideterminasi di Laboratorium Biologi S1 Farmasi STIKes Bhakti Mandala Husada Slawi..
2. Preparasi ekstrak etanol buah pare dan daun seledri
 - a. Pengumpulan bahan
Buah pare dan daun seledri diperoleh dari Kalibakung Kabupaten Tegal. Buah pare dipilih yang berwarna hijau cukup masak.
 - b. Pembuatan serbuk simplisia
Buah dan daun dibersihkan, dicuci dengan air, dan dipotong kecil-kecil. Lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 70°C hingga kering. Setelah kering, simplisia diblender sampai menjadi serbuk.
 - c. Pembuatan ekstrak etanol buah pare dan daun seledri⁽¹⁴⁾
Serbuk ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian diekstraksi dengan metode maserasi selama 3x24 jam. Sebanyak 500 g serbuk simplisia kering direndam dalam 2 liter etanol 96% pada suhu kamar selama 24 jam, lalu disaring dengan kertas saring. Filtrat I ditampung sedangkan ampasnya direndam kembali dalam 1 liter etanol 96% selama 24 jam, kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat II ditampung sedangkan ampasnya direndam kembali dalam 1 liter etanol 96% selama 24 jam, kemudian disaring lagi dengan kertas saring. Kemudian filtrat III ditampung kembali. Semua filtrat dicampur, lalu dilakukan evaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental.
3. Identifikasi Kandungan Triterpenoid dan Flavonoid
 - a. Identifikasi Flavonoid
Ekstrak etanol sebanyak 2 ml, ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat, jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid ⁽¹⁵⁾.
 - b. Identifikasi Triterpenoid
Ekstrak etanol sebanyak 2 ml, diuapkan sampai kering kemudian ditambah dengan pereaksi Lieberman-Burchard. Jika terjadi warna biru ungu maka ini menunjukkan adanya triterpenoid ⁽¹⁶⁾.
4. Uji pendahuluan penetapan waktu pemberian glukosa
Hewan uji dibagi secara random menjadi 2 kelompok perlakuan. Masing-masing terdiri dari 3 mencit. Hewan uji diberi sediaan uji (ekstrak) per oral kemudian diinduksi glukosa secara per oral setelah selang waktu 30 menit untuk kelompok I, 60 menit untuk kelompok II yang dihitung saat pemberian sediaan uji. Waktu yang paling optimal untuk pemberian glukosa adalah yang menghasilkan nilai AUC paling kecil.
5. Penetapan dosis
 - a. Dosis metformin

Dosis metformin yang diberikan per oral pada manusia sebesar 500 mg/70 kg BB maka dosis yang diberikan per oral pada mencit sebesar 1,3 mg/20 g BB⁽¹⁷⁾.

b. Dosis glukosa

Dosis glukosa yang diberikan per oral pada manusia sebesar 75 g/70 kg BB untuk menginduksi terjadi kondisi hiperglikemik, maka dosis yang diberikan per oral pada mencit sebesar 0,195 g/20 g BB⁽¹⁷⁾.

c. Dosis kombinasi ekstrak etanol buah pare dan daun seledri

Dosis ekstrak etanol yang digunakan dalam penelitian ini dibuat 5 dosis perlakuan yaitu:

Kelompok 1 = 100% buah pare (35 mg/20 g BB)

Kelompok 2 = kombinasi 75% buah pare (26,25 mg/20 g BB) + 25% daun seledri (7 mg/20g BB)

Kelompok 3 = kombinasi 50% buah pare (17,5 mg/20g BB) + 50% daun seledri (14 mg/20g BB)

Kelompok 4 = kombinasi 25% buah pare (8,75 mg/20g BB) + 75% daun seledri (21 mg/20g BB)

Kelompok 5 = 100% daun seledri (28 mg/20g BB)⁽¹¹⁾⁽¹³⁾.

6. Penetapan waktu pemberian glukosa dan pemberian ekstrak

Penetapan waktu ini dilakukan untuk mengetahui waktu yang tepat pemberian glukosa. Sebelum melakukan percobaan, hewan uji diadaptasikan terlebih dahulu dalam lingkungan penelitian selama seminggu untuk menyeragamkan cara hidup dan makannya. Sebelum perlakuan, hewan uji dipuaskan terlebih dahulu selama 12-18 jam. Hewan uji diberi minum *ad libitum*. Semua kelompok mencit diberi ekstrak sesuai kelompok, 30 menit atau 60 menit (sesuai uji pendahuluan) kemudian semua kelompok mencit diinduksi glukosa dosis 0,195 g/20 g BB.

7. Pemberian perlakuan pada hewan uji

Jumlah sampel dihitung dengan rumus federal, sehingga dengan 7 kelompok perlakuan dibutuhkan 4 kali ulangan dan diperoleh jumlah sampel sebanyak 28 ekor mencit.

$$(t-1)(r-1) > 15$$

Dimana t adalah jumlah perlakuan dan r adalah jumlah ulangan.

Hewan uji dibagi secara acak menjadi 7 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 4 mencit. Lalu masing-masing kelompok diberi ekstrak sesuai kelompok. Masing-masing kelompok tersebut yaitu:

a. Kelompok 1 (kontrol positif): Hewan uji diberi metformin dalam NaCMC 1% dengan dosis 1,3 mg/20 g BB mencit secara per oral.

b. Kelompok 2 (kontrol negatif): Hewan uji diberi NaCMC 1% sebanyak 3 ml/200 g BB secara per oral.

c. Kelompok 3: Hewan uji diberi ekstrak etanol buah pare dengan dosis 35 mg/20 g BB dalam NaCMC 1%.

d. Kelompok 4: Hewan uji diberi kombinasi ekstrak etanol buah pare dengan dosis 26,25 mg/20 g BB dan daun seledri dengan dosis 7 mg/20 g BB dalam NaCMC 1%.

e. Kelompok 5: Hewan uji diberi kombinasi ekstrak etanol buah pare dengan dosis 17,5 mg/20 g BB dan daun seledri dengan dosis 14 mg/20 g BB dalam NaCMC 1%.

f. Kelompok 6: Hewan uji diberi kombinasi ekstrak etanol buah pare dengan dosis 8,75 mg/20 g BB dan daun seledri dengan dosis 21 mg/20 g BB dalam NaCMC 1%.

g. Kelompok 7: Hewan uji diberi ekstrak etanol daun seledri dengan dosis 28 mg/20 g BB dalam NaCMC 1%.

Setelah diberi ekstrak, 30 menit atau 60 menit (sesuai uji pendahuluan) kemudian diberi glukosa secara peroral dengan dosis 0,195 g/20 g BB.

8. Penetapan kadar glukosa darah

Cuplikan darah diambil dari vena lateralis ekor pada menit ke 0, 30, 60, 90, dan 120 yang dihitung setelah pemberian glukosa secara per oral⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾ kemudian diukur dengan menggunakan metode *electrochemical glucose biosensor*. Cara menggunakannya yaitu darah mencit diambil dari vena lateralis ekor⁽²⁰⁾, kemudian ditetaskan pada strip alat ukur glukosa darah glukometer⁽¹⁹⁾⁽²¹⁾.

Kadar glukosa darah normal pada mencit berkisar 50-135 mg/dL, jika kadar glukosa darah mencit >135 mg/dL maka mencit dinyatakan hiperglikemik⁽²²⁾.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman dan Preparasi Ekstrak

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bhakti Mandala Husada Slawi yang bertujuan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan telah sesuai dan tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan sampel. Kebenaran tanaman dalam penelitian merupakan syarat mutlak yang harus dipenuhi. Hasil determinasi tanaman menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman pare (*Momordica charantia*) dari familia cucurbitaceae dan seledri (*Apium graveolens* L.) dari familia apiaceae.

Buah pare dan daun seledri yang diperoleh dari Kalibakung Kabupaten Tegal, dibersihkan dan dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel kemudian buah pare dipotong kecil-kecil lalu dikeringkan dengan cara dimasukkan ke dalam oven hingga kering. Tujuan dikeringkan untuk mengurangi kadar air, sehingga proses pembusukan dapat terhambat dan diperoleh simplisia yang tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama. Setelah kering simplisia diblender sampai menjadi serbuk, tujuan dibuat menjadi serbuk untuk

memperluas permukaan, sehingga zat-zat yang terkandung dalam simplisia lebih mudah tersari.

Pembuatan ekstrak etanol buah pare diawali dengan serbuk ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian diekstraksi dengan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena cara pengerjaan mudah dan alat yang digunakan sederhana. Serbuk yang telah ditimbang direndam dalam 3 liter etanol 96% pada suhu kamar selama 24 jam. Etanol digunakan sebagai larutan penyari karena etanol bersifat universal, artinya senyawa polar maupun nonpolar dapat tersari didalamnya. Setelah 24 jam, kemudian disaring dengan corong *Buchner* sehingga didapat filtrat. Perlakuan ini diulang hingga 3x24 jam, lalu semua filtrat dicampur dan dilakukan evaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental sebesar 41,75 gram. Rendemen yang dihasilkan sebesar 8,35%.

Preparasi ekstrak daun seledri dilakukan seperti pada preparasi ekstrak buah pare. Ekstrak kental yang diperoleh sebesar 142,55 gram. Rendemen yang dihasilkan sebesar 28,51%. Ekstrak etanol buah pare dan daun seledri diuji organoleptik dengan menggunakan panca indera untuk mendeskripsikan warna, rasa dan bau dari kedua ekstrak tersebut. Hasil uji organoleptik disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Organoleptik Ekstrak Etanol Buah Pare dan Daun seledri

Ekstrak	Warna	Rasa	Bau
Pare	Coklat tua	Pahit	Khas aromatik
Daun seledri	Hijau tua	Sedikit pahit	Khas aromatik

Rasa pahit hasil uji organoleptik pada ekstrak etanol buah pare dipengaruhi oleh kandungan momordikosida (triterpenoid kukurbitasin) yang pahit yaitu, momordikosida K ($C_{37}H_{58}O_9$), dan momordikosida L ($C_{36}H_{58}O_9$)⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽²³⁾. Warna hijau tua hasil uji organoleptik pada ekstrak etanol buah daun seledri dipengaruhi oleh kandungan klorofil yang terdapat pada buah daun seledri. Bau khas aromatik hasil uji organoleptik pada ekstrak etanol daun seledri dipengaruhi oleh kandungan terpenoid yang mudah menguap⁽²³⁾.

B. Identifikasi Kandungan Flavonoid dan Triterpenoid

Identifikasi adanya flavonoid dilakukan dengan metode uji pereaksi warna. Uji pereaksi ini dinamakan uji Wilstater dilakukan dengan melarutkan sebanyak 2 ml ekstrak etanol ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat. Hasil uji disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia dalam Ekstrak

Ekstrak	Flavonoid	Triterpenoid
Pare	+	-
Daun seledri	+	+

Keterangan: (+) = ada, (-) = tidak ada

Hasil positif pada uji flavonoid ini ditandai dengan terbentuknya warna merah jingga sampai merah ungu yang disebabkan karena terbentuknya garam flavilium.

Pada ekstrak etanol buah pare terjadi warna merah jingga atau kemerahan dan pada ekstrak etanol buah daun seledri terjadi warna merah keunguan. Perubahan warna tersebut menunjukkan bahwa buah pare dan daun seledri masing-masing positif mengandung flavonoid.

Identifikasi adanya triterpenoid dilakukan dengan metode uji pereaksi warna. Uji pereaksi ini dilakukan dengan sebanyak 2 ml ekstrak etanol diuapkan sampai kering kemudian ditambah dengan pereaksi Lieberman-Burchard. Pereaksi Lieberman-Burchard merupakan campuran antara asam asetat dan asam sulfat pekat. Hasil positif pada uji Lieberman-Burchard ditandai dengan terbentuknya warna biru-ungu. Pada ekstrak buah pare tidak terjadi warna biru keunguan dan pada ekstrak buah daun seledri terjadi warna biru. Perubahan warna tersebut menunjukkan bahwa daun seledri mengandung triterpenoid.

C. Uji Pendahuluan Waktu Pemberian Glukosa

Penelitian ini dilakukan uji pendahuluan penetapan waktu pemberian glukosa. Uji pendahuluan ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh rentang waktu antara pemberian glukosa dengan pemberian sediaan uji. Penetapan waktu pemberian glukosa perlu dilakukan agar ekstrak dapat memulai efeknya pada saat kadar glukosa darah mulai naik sehingga efek hipoglikemik ekstrak dapat tercapai maksimal. Sebelum mendapat perlakuan, mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 12-18 jam untuk menghindari variasi kadar glukosa darah karena perbedaan asupan makanan pada setiap individu.

Hewan uji dibagi secara random menjadi 2 kelompok perlakuan, masing-masing terdiri dari 10 mencit. Hewan uji diberi sediaan uji kombinasi ekstrak etanol buah pare 50% (17,5 mg/20 g BB) dan daun seledri 50% (14 mg/20 g BB) per oral kemudian diinduksi glukosa dengan dosis 0,195 g/20 g BB secara per oral setelah selang waktu 30 menit untuk kelompok I dan 60 menit untuk kelompok II yang dihitung setelah pemberian sediaan uji. Waktu yang paling optimal untuk pemberian glukosa adalah yang menghasilkan nilai AUC (*Area Under Curve*) paling kecil. Data kadar glukosa darah yang diperoleh dibuat kurva hubungan antara kadar glukosa darah (mg/dl) terhadap waktu (menit) kemudian dihitung AUC₀₋₁₂₀ dari kurva tersebut.

Hasil uji pendahuluan penetapan waktu pemberian glukosa diperoleh data AUC₀₋₁₂₀. Data AUC₀₋₁₂₀ yang menunjukkan waktu paling efektif adalah pada selang waktu 30 menit setelah pemberian sediaan uji. Hal ini dibuktikan dengan nilai AUC₀₋₁₂₀ yang lebih kecil yaitu 9.663,3 menit mg/dl dibandingkan dengan selang waktu 60 menit setelah pemberian sediaan uji seperti terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai AUC₀₋₁₂₀ Kurva Kadar Glukosa Darah terhadap Waktu pada Uji Pendahuluan Waktu Pemberian Glukosa

Mencit	AUC ₀₋₁₂₀ (menit mg/dL)	
	Kelompok 1	Kelompok 2
1	6.150	13.770
2	14.550	11.610
3	8.653	21.765
4	9.300	14.475
5	9.580	16.760
6	8.850	15.645
7	9.460	15.770
8	9.855	15.575
9	9.980	14.565
10	10.255	14.115
Rata-rata	9.663,3	15.405

Keterangan:

Kelompok 1: Hewan uji diinduksi glukosa 30 menit setelah pemberian sediaan uji.

Kelompok 2: Hewan uji diinduksi glukosa 60 menit setelah pemberian sediaan uji.

Pada kelompok 1 glukosa sudah mulai meningkatkan kadar glukosa darah dan sediaan uji telah mengalami absorpsi sehingga glukosa darah mencit dapat menjadi normal kembali dengan adanya pengaruh ekstrak tersebut. Sedangkan pada kelompok 2 menunjukkan data AUC₀₋₁₂₀ yang lebih besar, karena kemungkinan glukosa masuk ke dalam tubuh mencit pada saat ekstrak sudah tereliminasi, sehingga efek menurunkan glukosa darah tidak maksimal dan glukosa darah mencit tetap tinggi. Hasil uji pendahuluan ini dijadikan acuan untuk tahap penelitian selanjutnya.

D. Efek Hipoglikemik Sediaan Uji

Uji efek hipoglikemik ini menggunakan metode uji toleransi glukosa yaitu menginduksi glukosa pada hewan uji untuk membuat kondisi hiperglikemik. Metode ini mengikuti model DM tipe 2 yaitu sel beta pankreas masih dapat memproduksi insulin namun terjadi resistensi jaringan terhadap insulin sehingga kadar glukosa darah meningkat⁽²⁴⁾. Sebelum mendapat perlakuan, mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 12-18 jam tetapi tetap diberi minum *ad libitum*⁽¹⁷⁾. Kemudian hewan uji diberi ekstrak sesuai kelompok, yaitu setelah 30 menit sesuai uji dengan pendahuluan waktu pemberian glukosa dengan cara diinduksi glukosa untuk membuat kondisi hiperglikemik sehingga kadar glukosa darah mencit >175 mg/dl⁽²²⁾.

Cuplikan darah diambil dari vena lateralis ekor mencit pada menit ke nol saat pemberian glukosa secara per oral, lalu menit ke 30, 60, 90 dan 120 yang diukur dengan metode *electrochemical glucose biosensor*. Prinsip metode *electrochemical glucose biosensor* yaitu kadar glukosa darah ditentukan menggunakan alat ukur elektronik yang berdasarkan sistem biosensor dengan metode elektrokimia⁽³⁾. Metode ini telah dievaluasi dan memiliki kecepatan, keakuratan dan ketelitian yang baik dalam pengukuran kadar

glukosa darah. Cara menggunakannya yaitu darah mencit diambil dari vena lateralis ekor, kemudian ditetaskan pada strip alat ukur glukosa darah. Data kadar glukosa yang didapat selanjutnya dihitung "Area Under Curve (AUC)" dari menit 0-120' (AUC₀₋₁₂₀) dengan menggunakan rumus:

$$[AUC_{t_{n-1}}^{t_n}] = \frac{C_{n-1} + C_n}{2} (t_n - t_{n-1})$$

Keterangan t_n = waktu pengamatan dari konsentrasi obat C_n dan t_{n-1} = waktu pengamatan sebelumnya yang berhubungan dengan konsentrasi obat C_{n-1} .

AUC₀₋₁₂₀ digunakan sebagai gambaran efek hipoglikemik dari kombinasi ekstrak etanol buah pare dan buah daun seledri. Semakin kecil nilai AUC₀₋₁₂₀ maka efek hipoglikemik semakin besar. Data AUC₀₋₁₂₀ dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata Area Under Curve dari menit 0-120' (AUC₀₋₁₂₀) untuk Tiap Kelompok

No	Kelompok	Rata-rata AUC ₀₋₁₂₀ (menit mg/dl)
1.	Kontrol positif perlakuan metformin 9 mg/kg BB	7.682,5
2.	Kontrol negatif perlakuan NaCMC 1%	12.583
3.	Perlakuan ekstrak etanol buah pare dosis 100% (250 mg/kg BB)	8.880
4.	Perlakuan kombinasi ekstrak etanol buah pare dosis 75% (187,5 mg/kg BB) dan daun seledri dosis 25% (50 mg/kg BB)	9.740
5.	Perlakuan kombinasi ekstrak etanol buah pare dosis 50% (125 mg/kg BB) dan daun seledri dosis 50% (100 mg/kg BB)	8.160
6.	Perlakuan kombinasi ekstrak etanol buah pare dosis 25% (62,5 mg/kg BB) dan daun seledri dosis 75% (150 mg/kg BB)	10.620
7.	Perlakuan ekstrak etanol daun seledri dosis 100% (200 mg/kg BB)	11.265

Data AUC₀₋₁₂₀ yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan metode statistik parametrik yaitu uji Anova Satu Arah untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok. Hasil analisis data secara statistik menggunakan Anova Satu Arah menunjukkan nilai F hitung sebesar 47,147. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok karena F hitung lebih besar dari F tabel (2,23). Selanjutnya data dianalisis dengan uji *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

Berdasarkan analisis data uji LSD terlihat bahwa kelompok 1, 3, 4, 5, 6 dan 7 berbeda bermakna dengan kelompok 2. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol

positif dan seluruh kelompok perlakuan memiliki efek hipoglikemik. Kelompok 3 (perlakuan dengan ekstrak etanol buah pare 100%) memiliki efek hipoglikemik yang ditandai dengan AUC_{0-120} yang lebih kecil dibandingkan AUC_{0-120} kelompok 2 (kontrol negatif), hal ini didukung penelitian⁽¹¹⁾ bahwa ekstrak etanol buah pare pada dosis 250 mg/kg BB memiliki efek hipoglikemik yang sama dengan glibenklamid pada tikus putih diabetic. Demikian juga kelompok 7 (perlakuan dengan ekstrak etanol daun seledri 100%) memiliki efek hipoglikemik yang ditandai dengan AUC_{0-120} yang lebih kecil dibandingkan AUC_{0-120} kelompok 2 (kontrol negatif).

Kelompok 3 tidak berbeda bermakna dengan kelompok 5, hal ini menunjukkan kelompok pare 100% memiliki efek hipoglikemik yang tidak berbeda dengan kelompok kombinasi pare konsentrasi 50% dan daun seledri konsentrasi 50%. Kelompok 6 tidak berbeda bermakna dengan kelompok 7, hal ini menunjukkan kelompok kombinasi pare konsentrasi 25% dan daun seledri konsentrasi 75% memiliki efek hipoglikemik yang tidak berbeda dengan kelompok daun seledri konsentrasi 100%.

Berdasarkan analisis data uji LSD menunjukkan bahwa perlakuan dengan kombinasi ekstrak etanol buah pare konsentrasi 50% (125 mg/kg BB) dan daun seledri konsentrasi 50% (100 mg/kg BB) menghasilkan efek hipoglikemik paling baik jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain ($p < 0,05$) dan memiliki efek hipoglikemik yang tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif metformin ($p > 0,05$). Hal ini juga menunjukkan bahwa efek sinergis dari kombinasi buah pare dan daun seledri terbukti meningkatkan efek hipoglikemik dengan perbandingan konsentrasi 50% ekstrak etanol buah pare (125 mg/kg BB) dan konsentrasi 50% ekstrak etanol daun seledri (100 mg/kg BB).

Tabel 5. Perbandingan Data Rata-rata AUC_{0-120} , Anova, dan LSD Kelompok 1 dengan kelompok lain.

K	Rata-rata AUC_{0-120} (menit mg/dl)	Anova	LSD K1 vs K...
K1	7.682,5	-	-
K2	12.583	Ada perbedaan bermakna	Berbeda bermakna
K3	8.880	Ada perbedaan bermakna	Berbeda bermakna
K4	9.740	Ada perbedaan bermakna	Berbeda bermakna
K5	8.160	Ada perbedaan bermakna	Tidak Berbeda bermakna
K6	10.620	Ada perbedaan bermakna	Berbeda bermakna
K7	11.265	Ada perbedaan bermakna	Berbeda bermakna

Keterangan:

K: Kelompok

K1: Kontrol positif dengan perlakuan metformin 1,3 mg/20 g BB

K2: Kontrol negatif dengan perlakuan NaCMC 1%

K3: Perlakuan dengan ekstrak etanol buah pare dosis 100% (35 mg/20 g BB)

K4: Perlakuan dengan kombinasi ekstrak etanol buah pare dosis 75% (26,25 mg/20 g BB)

dan daun seledri dosis 25% (7 mg/20 g BB)

K5: Perlakuan dengan kombinasi ekstrak etanol buah pare dosis 50% (17,5 mg/20 g BB)

dan daun seledri dosis 50% (14 mg/20 g BB)

K6: Perlakuan dengan kombinasi ekstrak etanol buah pare dosis 25% (8,75 mg/20 g BB)

dan daun seledri dosis 75% (21 mg/20 g BB)

K7: Perlakuan dengan ekstrak etanol buah daun seledri dosis 100% (28 mg/20 g BB)

AUC_{0-120} : Area Under Curve menit 0-120

LSD: Least Significant Difference

Campuran alami yang ditemukan dalam suatu ekstrak tumbuhan dapat memberikan keuntungan yang berasal dari interaksi antar komponen-komponen yang dikandungnya. Perbedaan dosis kombinasi dari obat dengan efek yang sama dapat menunjukkan perbedaan interaksi dengan 3 kemungkinan yaitu interaksi *zero*, positif (sinergis) dan negatif (antagonis). Interaksi positif merupakan interaksi yang diharapkan dalam pengembangan produk herbal kombinasi. Suatu kombinasi produk obat herbal atau ekstrak herbal dikatakan sinergis jika menghasilkan efek yang lebih besar dibandingkan efek masing-masing komponen tunggalnya. Pemberian kombinasi ekstrak etanol buah pare dan daun seledri dengan perbandingan konsentrasi 50%:50% menghasilkan interaksi positif (sinergis) karena menghasilkan efek hipoglikemik yang berbeda signifikan dengan pemberian ekstrak etanol buah pare ataupun daun seledri secara tunggal.

Pare mengandung senyawa golongan flavonoid yang berada dalam bentuk glikosidanya mempunyai gugus-gugus gula seperti amigladin, dapat menangkap radikal hidroksil yang disebabkan oleh zat diabetogenik, sehingga dapat mencegah efek diabetogenik⁽²⁵⁾. Buah pare juga dilaporkan mengandung zat antioksidan, mampu memperbaiki sel beta pancreas yang mampu menurunkan kadar glukosa darah⁽²⁶⁾. Struktur fenolik diketahui memiliki peran penting dalam penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas termasuk diabetes. Flavonoid jenis apigenin dan luteolin banyak terdapat pada tanaman seledri. Apigenin memiliki efek inhibisi enzim aldose reductase. Enzim ini diketahui memiliki peran dalam jalur polyol sebagai katalis reduktasi glukosa menjadi sorbitol sehingga tidak dapat melewati membran. Pada kasus diabetes, sorbitol akan terakumulasi didalam intraseluler sehingga akan mengakibatkan komplikasi kronik⁽²⁷⁾.

IV. KESIMPULAN

Ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dan daun seledri (*Apium graveolens*) masing-masing mengandung triterpenoid dan flavonoid. Kombinasi ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dan daun seledri (*Apium*

graviolens) memiliki efek hipoglikemik pada mencit dengan induksi glukosa. Konsentrasi kombinasi ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dan daun seledri (*Apium graveolens*) yang efektif sebagai agen hipoglikemik pada mencit dengan induksi glukosa adalah kombinasi ekstrak etanol buah pare konsentrasi 50% (17,5 mg/20 g BB) dan daun seledri konsentrasi 50% (14 mg/20 g BB).

V. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada ristekdikti yang telah memberi dukungan finansial dan juga pelatihan-pelatihan tentang teknis penulisan penelitian. STIKes Bhakti Mandala Husada yang telah memberi dukungan dan kesempatan atas terlaksananya penelitian ini.

VI. REFERENSI

- [1] Shaw, J.E., Sicree, R.A., Zimmet, P.Z., 2009, Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030, *Diabetes Research and Clinical Practice* 87, 4-14.
- [2] Anonim, 2014, Info DATIN Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI, Jakarta Selatan
- [3] Wang, J., 2008, Electrochemical Glucose Biosensors, *American Chemical Society Review*, Vol 108, No. 2.
- [4] Widowati, W., 2008, Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes, *Jurnal Kedokteran Maranatha* Vol 7 No 2 Februari 2008 193-202.
- [5] Seogondo, S., 2006, Farmakoterapi Pada Pengendalian Glikemia Diabetes Mellitus Tipe 2, Dalam: Sudoyo AW., Setiyohadi B., Alwi I., Simadibrata M., Setiati S., Editor, *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi IV, Jilid III, Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, Jakarta
- [6] Kesari, A.N., Gupta, R.K., Singh, S.K., Diwakar, S., Watal, G., 2006, Hypoglycemic and antihyperglycemic activity of *Aegle marmelos* seed extract in normal and diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology* 107, 374-379.
- [7] Day, C., 1998, Traditional plant treatment for diabetes mellitus: pharmaceutical foods, *Britain Journal of Nutrition* 80, 5-6.
- [8] Rao, V.V., Dwivedi, S.K., Swarup, D., Sharma, S.R., 2000, Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Aegle marmelos* leaves in rabbits, *Current Science* 69, 932-933.
- [9] Harinantenaina, L., Tanaka, M., Takaoka, S., 2006, *Momordica charantia* constituents and antidiabetic screening of the isolated major compounds, *Chem Pharm Bull* (Tokyo), 54:1017-1021.
- [10] Tan, M.J., Ye, J.M., Turner, N., Hohnen-Behrens, C., Ke, C.Q., Tang, C.P., Chen, T., Weiss, H.C., Gesing, E.R., Rowland, A., James, D.E., Ye, Y., 2008, Antidiabetic Activities of Triterpenoids Isolated from Bitter Melon Associated with Activation of the AMPK Pathway, *Chemistry and Biology* 15, 253-273.
- [11] Fernandes, N.P.C., Lagishetty, C.V., Panda, V.S., Naik, S.R., 2007, An experimental evaluation of the antidiabetic and antilipidemic properties of a standardized *Momordica charantia* fruit extract, *BMC Complementary Alternative Medicine*, doi:10.1186/1472-6882-7-30.
- [12] Sakpakdeejaroen, I., dan Itharat, A., 2009, Cytotoxic Compounds Against Breast Adenocarcinoma Cell (MCF-7) From Pikutbenjakul, *J. Health Res.*, 23 (2), 71-76.
- [13] Gutierrez, R.M.P., Juarez, V.A., Saucedo, J.V., Sosa, I.A., 2014, *In vitro* and *in vivo* Antidiabetic and Antiglycation Properties of *Apium graveolens* in Type 1 and 2 Diabetic Rats, *International Journal of Pharmacology*, Vol. 10, No. 7, 368 - 379.
- [14] Depkes R.I., 1986, *Sediaan Galenik*, 25, Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- [15] Depkes, 1995, *Materia Medika Indonesia Jilid VI*, 337, Depkes RI Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- [16] Hanani, E., Mun'im, A., Sekarini, R., 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam *Spongy Callyspongia Sp* dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol II, No. 3, 127-133.
- [17] Lola, M.H.C., Liben, P., Soemartojo, J., 2008, Efek Kombinasi Jus Daging Buah pare (*Momordica charantia* L) dan Jus Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap

- Penurunan Kadar Glukosa Darah, *Jurnal Obat Bahan Alam* Vol 7 (1).
- [18] Adynana, I.K., 2004, Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L), *Acta Pharmaceutica Indonesia*, Vol 29.
- [19] Genatrika, E., 2009, Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Teh (*Camellia sinensis* L) Sebagai Antidiabetik Pada Mencit Galur Wistar, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- [20] Said, R., Abdel-Rehim, M., Sadeghi, B., Al-Hashemi, S, Hassan, Z., Hassan, M., 2007, Cyclophosphamide Pharmacokinetics in Mice: A Comparison Between Retro Orbital Sampling Versus Serial Tail Vein Bleeding, *The Open Pharmacology*, vol 1.
- [21] Raja, L.L., 2008, Uji Efek Ekstrak Etanol Buah Mahoni (*Swietenia Mahagoni Jacq*) terhadap Penurunan Kadar Glukosa darah Mencit, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara.
- [22] Committee for the Purpose of Control and Supervision on Experiments on Animals (CPCSEA), 2003, CPCSEA Guidelines for Laboratory Animal Facility, *Indian Journal of Pharmacology* Vol 35.
- [23] Subahar, T., dan Tim Lentara, 2004, *Khasiat dan Manfaat Pare: si Pahit Pembasmi Penyakit*, Agromedia Pustaka, Jakarta.
- [24] Katzung, B.G., 2002, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, diterjemahkan oleh Sjabana, D., Rahardjo., Sastrowardoyo, W., Hamzah., Isbandiati, E., Uno, I., Purwaningsih, S., 674-673,694-699, Salemba Medika, Jakarta.
- [25] Studiawan H, Santosa M.H., 2005, Uji Aktivitas Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun *Eugenia polyanta* pada mencit yang diinduksi aloksan. *Media Kedokteran Hewan*, 21.
- [26] Wresdiyati T, Astawan M, Kesenja R, Lestari PA., 2008, Pengaruh Pemberian Tepung Buah Pare (*Momordica charantia* L) pada Sel a dan SOD Pankreas Tikus Diabetes Melitus. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 6(5).
- [27] Kanter M, Meral I, Yener Z, Ozbek H, Demir H., 2003, Partial regeneration/ proliferation of the b cells in the islets of langerhans by *Nigella sativa* L. in streptozotocin-induced diabetic rats, *Tohoku J. Exp.Med.*